

# WRITTEN COMMUNICATION OF INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

International Application No. PCT/RU 2004/000464

## V. Reasoned statement under Rule 43 bis.1(a)(i) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

### 1. Statement

Novelty (N)	Claims <u>1—9</u>	YES
	Claims _____	NO
Inventive step (IS)	Claims _____	YES
	Claims <u>1—9</u>	NO
Industrial applicability (IA)	Claims <u>1—9</u>	YES
	Claims _____	NO

### 2. Citations and explanations supporting such statement:

D1: RU 2216547 C2

D2: RUBINA A.Yu. et al. "Hydrogel-based protein microchips: manufacturing, properties, and applications", BioTechniques, 2003, 34(5), pp. 1008-1022.

D3: LIGLER F.S. et al. "Array biosensor for detection of toxins", Anal. Bioanal. Chem., 2003, Oct.; 377 (3), pp. 469-477. Epub. 2003 Jun 13, abstract.

D4: RUBINA A.Yu. et al. "Hydrogel drop microchips with immobilized DNA: properties and methods for large-scale production", Analytical Biochemistry, 2004, 325, pp. 92-106.

D5: JP 8075742

D1 describes producing of a composition for immobilization of molecules, including oligonucleotides, proteins and nucleic acids, in polymeric carriers (polymers) at the moment of polymer synthesis; and a method for the immobilization of molecules, including oligonucleotides, proteins and nucleic acids, in polymeric carriers (polymers) at the moment of polymer synthesis. The proposed composition and method for the immobilization of various molecules in a polymeric carrier with the use of this composition can be used in various applications, including the manufacture of microchips.

Known from D2 are a method for manufacturing hydrogel-based microchips and their use for direct quantitative immunological assay of various ligands (oligonucleotides, DNAs, enzymes, antibodies, antigens, other proteins and low-molecular ligands) with the use of fluorescence, chemiluminescence and mass-spectrometric methods. Direct immunoassay with immobilized antibodies, sandwich-immunoassay of prostate-specific antigens, etc. are also described in D2. The quantitative detection of ligands of different nature comprises the steps of incubating the microchip in a reaction medium, detecting the formed complex and quantitative detecting the compound being analyzed.

D3 describes a biosensor containing channels with immobilized antibodies on the slide surface, with the aid of which using "sandwich" methods and competitive fluorescent immunoassay, simultaneous detection of different high- and low-molecular toxins (staphylococcal enterotoxin B, ricin, cholera toxin, botulism toxoids, trinitrotoluene and mycotoxin) in different analytes.

D4 describes manufacturing and application of hydrogel-based microchips with various immobilized compounds, including proteins and minor ligands in clinical diagnostics and in the determination and classification of cell proteins.

Form PCT/ISA/237 (Section V) (April 2005)

**WRITTEN COMMUNICATION  
OF INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY**

International Application No. PCT/RU 2004/000464

**Additional sheet**

From D5 there is known an immunoassay of antigen or antibody, employed for detecting, quantitative and qualitative analysis of bacteria, bacterial toxins or virus proteins, for the diagnosis of bacterial infection or for the immunological diagnosis of cancer, comprising immobilization of an antigen or antibody specimen on a plastic filter having a large number of fine pores, wherein said specimen is subjected to quantitative and qualitative analysis by enzyme immunoassay.

D2 is the closest analog of the claimed invention

The difference of the method according to claim 1 from D2 is (a) in manufacturing a biological microchip comprising an ordered array of hydrogel cells on a solid support, obtained by the method of photo- or chemically-induced polymerization and containing immobilized antibodies to various biotoxins of bacterial, vegetable or animal origin or biotoxins, in each separate cell an antibody to an individual biotoxin or an individual biotoxin having been immobilized.

Consequently, the invention according to claims 1—9 meets the criterion of “novelty”.

However, the method of manufacturing a biological microchip in accordance with step a) is known from D1 (the set of claims). Therefore, the method for quantitatively detecting biotoxins in a sample with using known biological microchips and carrying out conventional steps of immunological assay is known and follows in an obvious manner from D1—D2.

In this connection, the method according to claim 1 fails to meet the criterion of “inventive step”.

The features of dependent claims 2, 3, 5—7 are known from D3, wherein there is presented simultaneous detection of biotoxins (staphylococcal enterotoxin B, ricin, cholera toxin, botulism toxoids, trinitrotoluene, and mycotoxin) by immunological methods, including sandwich-immunoassay and competitive fluorescent immunoassay with the aid of a biosensor with immobilized antibodies is known from D3. Therefore claims 2, 3, 5—7 fail to meet the criterion of “inventive step”.

The use of direct immunoassay, (claim 4), sandwich-immunoassay (claim 7), fluorimetric, chemiluminescent or mass-spectrometric analysis (claim 9) for detecting the formed complex and quantitative detection of the compound being investigated by plotting a calibration dependence curve (claim 8) is also described in D2. In this connection, claims 4, 8 and 9 also fail to meet the criterion of “inventive step”,

The invention is industrially applicable.

PCT/ISA/237 (Additional section) (April 2005)

## ДОГОВОР О ПАТЕНТНОЙ КООПЕРАЦИИ

от  
МЕЖДУНАРОДНОГО ПОИСКОВОГО ОРГАНА

Кому:

ООО «СОЮЗПАТЕНТ»,  
ул. Ильинка, 5/2,  
Москва, 103735

**PCT**

ПИСЬМЕННОЕ СООБЩЕНИЕ  
МЕЖДУНАРОДНОГО ПОИСКОВОГО ОРГАНА  
(PCT Правило 43bis.1)

Дата отправки: 21 июля 2005 (21. 07. 2005)  
(день/месяц/год)

№ дела заявителя или агента:

R04100240

**ДЛЯ ДАЛЬНЕЙШИХ ДЕЙСТВИЙ**

См. пункт 2 ниже

Номер международной заявки:

PCT/RU 2004/000464

Дата международной подачи:

24 ноября 2004 (24.11.2004)

Самая ранняя дата приоритета:

Международная патентная классификация (МПК-7):

G01N 33/53

Заявитель: ИНСТИТУТ МОЛЕКУЛЯРНОЙ БИОЛОГИИ ИМ. В.А. ЭНГЕЛЬГАРДТА  
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК и др.

1. Данное сообщение содержит информацию, относящуюся к следующим разделам:

- ☒ Графа I Основа сообщения
- ☐ Графа II Приоритет
- ☐ Графа III Отсутствие заключения в отношении новизны, изобретательского уровня и промышленной применимости
- ☐ Графа IV Нарушение единства изобретения
- ☒ Графа V Обоснованное утверждение в соответствии с Правилom 43 bis.1(a)(i) в отношении новизны, изобретательского уровня и промышленной применимости; ссылки и пояснения, подкрепляющие такое утверждение
- ☐ Графа VI Некоторые процитированные документы
- ☐ Графа VII Некоторые недостатки в международной заявке
- ☐ Графа VIII Некоторые замечания по международной заявке

## 2. ДАЛЬНЕЙШИЕ ДЕЙСТВИЯ

Если требование на проведение международной предварительной экспертизы будет подано, тогда данное сообщение будет рассматриваться как первое письменное сообщение от Органа международной предварительной экспертизы ("IPEA"). Данная норма не применяется в случае, когда заявитель выбирает другой Орган, отличный от данного, в качестве IPEA, и выбранный IPEA уведомил Международное бюро в соответствии с Правилom 66.1 bis(b), что письменные сообщения от данного Международного поискового органа не будут рассматриваться как таковые.

Если данное сообщение рассматривается в качестве первого письменного сообщения IPEA, как предусмотрено выше, заявителю предлагается представить в IPEA письменный ответ с изменениями, в случаях когда это целесообразно, до истечения 3-х месяцев с даты почтовой отправки Формы PCT/ISA/220 или до истечения 22-х месяцев с даты приоритета, в зависимости от того, какой срок истекает позднее.

Для дополнительной информации, см. Форму PCT/ISA/220.

3. Для дальнейших разъяснений см. Форму PCT/ISA/220.

Наименование и адрес Международного  
поискового органа: Федеральный институт  
промышленной собственности,  
РФ, 123995, Москва, Г-59, ГСП-5, Бережковская  
наб., 30-1  
Факс: 243-3337, телетайп: 114818 ПОДАЧА

Дата завершения данного сообщения

12 июля 2005 (12. 07. 2005)

Уполномоченное лицо:

О. Глушенкова

Телефон № 240-25-91

**ПИСЬМЕННОЕ СООБЩЕНИЕ  
МЕЖДУНАРОДНОГО ПОИСКОВОГО ОРГАНА**

Номер международной  
заявки:  
PCT/RU 2004/000464

**Графа I    Основа сообщения**

1. Относительно языка, данное сообщение подготовлено на основе:
- ☒ международной заявки, на языке, на котором она была подана
- ☐ перевода международной заявки на следующий язык \_\_\_\_\_, который является языком
2. Относительно любой последовательности нуклеотидов и/или аминокислот, раскрытой в международной заявке и необходимой для заявленного изобретения, данное сообщение подготовлено на основе:
- а. тип материала
- ☐ перечень последовательностей
- ☐ таблицы, относящиеся к перечню последовательностей
- б. формат материала
- ☐ на бумажном носителе
- ☐ в электронной форме
- с. время подачи/предоставления
- ☐ содержались в первоначально поданной заявке
- ☐ первоначально поданы вместе с международной заявкой в электронной форме
- ☐ представлены впоследствии в данный Орган для целей проведения поиска
- ☐ Дополнительно, в случае, если более чем одна версия или копия перечня последовательности и/или соответствующая таблица, были поданы первоначально или были представлены впоследствии, требуется, чтобы информация в последующих или дополнительных копиях была идентична той, которая была в первоначально поданной заявке, или не выходила за рамки раскрытия первоначально поданной заявки.
3. Дополнительно, в случае, если более чем одна версия или копия перечня последовательности и/или соответствующая таблица, были поданы первоначально или были представлены впоследствии, требуется, чтобы информация в последующих или дополнительных копиях была идентична той, которая была в первоначально поданной заявке, или не выходила за рамки раскрытия первоначально поданной заявки.
4. Дополнительные комментарии:

**ПИСЬМЕННОЕ СООБЩЕНИЕ  
МЕЖДУНАРОДНОГО ПОИСКОВОГО ОРГАНА**

Номер международной  
заявки:  
PCT/RU 2004/000464

**Графа V** Обоснованное утверждение в соответствии с Правилom 43 *bis*.1(a)(i) в отношении новизны, изобретательского уровня и промышленной применимости; ссылки и пояснения, подкрепляющие такое утверждение

**1. Утверждение**

Новизна (N)	Пункты	<u>1-9</u>	ДА
	Пункты	<u></u>	НЕТ
Изобретательский уровень (IS)	Пункты	<u></u>	ДА
	Пункты	<u>1-9</u>	НЕТ
Промышленная применимость (IA)	Пункты	<u>1-9</u>	ДА
	Пункты	<u></u>	НЕТ

**2. Ссылки и пояснения**

D1: RU 2216547 C2

D2: RUBINA A.Yu et al. "Hydrogel-based protein microchips: manufacturing, properties, and applications", BioTechniques, 2003, 34(5), p. 1008-1022

D3: LIGLER F.S. et al "Array biosensor for detection of toxins", Anal Bioanal Chem., 2003, Oct; 377(3), p. 469-477. Epub 2003 Jun 13, реферат

D4: RUBINA A.Yu et al "Hydrogel drop microchips with immobilized DNA: properties and methods for large-scale production", Analytical biochemistry, 2004, 325, p. 92-106

D5: JP 8075742

В D1 описано получение композиции для иммобилизации молекул, в том числе олигонуклеотидов, белков и нуклеиновых кислот, в полимерных носителях (полимерах) в момент синтеза полимера; и способ иммобилизации молекул, в том числе олигонуклеотидов, белков и нуклеиновых кислот, в полимерных носителях (полимерах) в момент синтеза полимера. Предлагаемая композиция и способ иммобилизации различных молекул в полимерном носителе с использованием этой композиции может использоваться в различных приложениях, в том числе для изготовления микрочипов.

Из D2 известен способ получения микрочипов на основе гидрогеля и их применение для прямого количественного иммунологического анализа различных лигандов (олигонуклеотидов, ДНК, ферментов, антител, антигенов, других белков и низкомолекулярных лигандов) с использованием методов флуоресценции, хемилюминисценции, масс-спектрометрии. Также, в D2 описан прямой иммуноанализ с иммобилизованными антителами, сэндвич-иммуноанализ простат-специфического антигена и др. Количественное обнаружение лигандов различной природы включает стадии инкубации микрочипа в реакционной среде, детекции образовавшегося комплекса и количественное обнаружение анализируемого соединения.

В D3 описан биосенсор, содержащий на поверхности предметного стекла каналы с иммобилизованными антителами, с помощью которого методами «сэндвич» и конкуретным флуоресцентным иммуноанализом проводили одновременное



ПИСЬМЕННОЕ СООБЩЕНИЕ  
МЕЖДУНАРОДНОГО ПОИСКОВОГО ОРГАНА

Номер международной  
заявки:  
PCT/RU 2004/000464

Дополнительный лист

выявление различных высоко- и низкомолекулярных токсинов (стафилококкового энтеротоксина В, рицина, холерного токсина, токсидов ботулизма, тринитротолуола и микотоксина) в различных анализатах.

D4 описывает получение и применение микрочипов на основе гидрогеля с различными иммобилизованными соединениями, в том числе белками и малыми лигандами в клинической диагностике и при определении и классификации белков клетки.

Из D5 известен иммунологический анализ антигена или антитела, используемый для выявления, количественного и качественного анализа бактерий, бактериальных токсинов или вирусных белков, диагностики бактериальной инфекции или иммунологической диагностики природы рака, включающий в себя иммобилизацию антигена или антитела образца на пластиковом фильтре, имеющем множество мелких пор, который подвергают количественному и качественному ферментативному иммуноанализу.

D2 является наиболее близким аналогом заявленного изобретения.

Отличие способа по п.1 от D2 состоит (а) в изготовлении биологического микрочипа, представляющего собой упорядоченный массив трехмерных гидрогелевых ячеек на твердой подложке, полученных методом фото- или химически индуцированной полимеризации и содержащих иммобилизованные антитела к различным биотоксинам бактериального, растительного и животного происхождения или биотоксины, причем в каждой отдельной ячейке иммобилизовано антитело к индивидуальному биотоксину или индивидуальный биотоксин.

Следовательно, изобретение по п.п.1-9 соответствует критерию «новизна».

Однако, способ изготовления биологического микрочипа в соответствии со стадией а) известен из D1 (формула). Таким образом, способ количественного обнаружения биотоксинов в образце с использованием известных биологических микрочипов и проведением обычных стадий иммунологического анализа известен и явным образом следует из D1- D2.

В связи с этим, способ по пункту 1 не соответствует критерию «изобретательский уровень».

Признаки зависимых пунктов 2,3,5-7 известны из D3 в котором представлено одновременное выявление биотоксинов (стафилококковый энтеротоксин В, риксин, холерный токсин, токсиды ботулизма, тринитротолуол и микотоксин) иммунологическими методами, в том числе сэндвич-иммуноанализом и конкурентным флуоресцентным иммуноанализом с помощью биосенсера с иммобилизованными антителами известно из D3. Таким образом, п.п. 2, 3, 5-7 не соответствуют критерию «изобретательский уровень».

Использование прямого иммуноанализа (п.4), сэндвич-иммуноанализа (п.7), флуориметрического, хемилюминисцентного или масс-спектрометрии (п.9) для детекции образовавшегося комплекса и количественное обнаружение исследуемого соединения путем построения калибровочной зависимости (п.8) также описано в D2. В связи с этим, пункты 4, 8 и 9 также не соответствуют критерию «изобретательский уровень».

Изобретение промышленно применимо.